

KONINKRIJK DER



NEDERLANDEN

Bureau voor de Industriële Eigendom



REC'D 13 OCT 2003

WIPO PCT

Hierbij wordt verklaard, dat in Nederland op 13 september 2002 onder nummer 1021458,

ten name van:

**NEDERLANDSE ORGANISATIE VOOR TOEGEPAST-
NATUURWETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK TNO**

te Delft

een aanvraag om octrooi werd ingediend voor:

"Anaërobe biologische afbraak van aromatische koolwaterstoffen",

en dat de hieraan gehechte stukken overeenstemmen met de oorspronkelijk ingediende stukken.

Rijswijk, 29 september 2003

De Directeur van het Bureau voor de Industriële Eigendom,
voor deze,

Mw. I.W. Scheevelenbos-de Reus

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

BEST AVAILABLE COPY

1021458

15

B. v.d. I.E.

13 SEP. 2002

UITTREKSEL

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor de anaërobe biologische afbraak van aromatische koolwaterstoffen (in het bijzonder benzeen), alsmede op een specifiek mengsel en de toepassing daarvan voor deze afbraak. Volgens de uitvinding wordt de anaërobe biologische afbraak van aromatische koolwaterstoffen, aanwezig op een verontreinigde locatie, gestimuleerd en gestabiliseerd door toepassing van een combinatie van humuszuren en nitraat, die aan anaërobe bacteriepopulaties wordt toegevoegd.

1021458

13 SEP. 2002

P60619NL00

Titel: Anaërobe biologische afbraak van aromatische koolwaterstoffen

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor de anaërobe biologische afbraak van aromatische koolwaterstoffen, alsmede op een specifiek mengsel en de toepassing daarvan voor deze afbraak.

Bij bodemsaneringen wordt voor afbraak van aromatische koolwaterstoffen, zoals benzeen, veelal gebruik gemaakt van aërobe afbraak. De nettoreactievergelijking voor deze afbraak kan als volgt worden voorgesteld (voor benzeen):

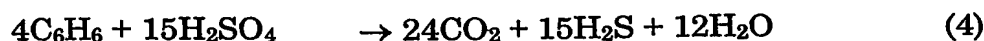
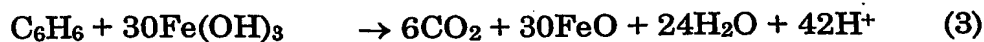
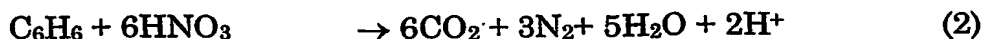


10

Persluchtinjectie is de meest gebruikte methode om een dergelijke afbraak te bewerkstelligen. Daarnaast zijn er methoden bekend waarbij zuurstof-afgevende verbindingen (oxygen release compounds, ORC) in de bodem worden gebracht. Voorbeelden van dergelijke componenten zijn waterstofperoxide, ozon en vaste stoffen zoals MgO_2 . De methoden waarbij zuurstofdragende componenten in de bodem worden gebracht worden met name op kleinere schaal ingezet maar hebben als nadeel dat de genoemde componenten chemisch instabiel zijn en/of een geringe biobeschikbaarheid hebben.

20 Vooral in diepe bodemsystemen, zeker als deze een complexe opbouw hebben, is de introductie van zuurstof duur, inefficiënt en moeilijk uit te voeren.

25 Hoewel anaërobe afbraak van benzeen is aangetoond in bodems, blijkt deze afbraakcapaciteit op veel locaties niet aanwezig te zijn. Op locaties waar de anaërobe afbraak wel optreedt, verloopt het proces bijvoorbeeld volgens de volgende nettoreactievergelijkingen, waarbij respectievelijk nitraat, ijzer en sulfaat als elektronenacceptor optreden:



5 De reactiesnelheden van anaërobe afbraak (2-4) zijn echter orden van grootte lager dan die van aërobe afbraak (1). Er is nog maar weinig bekend omtrent de mechanismen van anaërobe afbraak van benzeen en de bacteriën die bij dit proces betrokken zijn. Hierdoor ontbreken technieken waarmee reproduceerbaar een snelle en stabiele anaërobe benzeenafbraak
10 verkregen kan worden, hetgeen een belangrijke beperking vormt voor de ontwikkeling van de biologische bodemsanering van met benzeen en andere aromatische koolwaterstoffen verontreinigde locaties.

Er is derhalve een behoefte aan alternatieve methoden voor de afbraak van benzeen en andere aromatische koolwaterstoffen.

15 Gevonden is dat door toepassing van een specifiek mengsel van ten minste een elektronenacceptor en een of meer humuszuren in deze behoefte kan worden voorzien. Derhalve betreft de onderhavige uitvinding een werkwijze voor de anaërobe biologische afbraak van aromatische koolwaterstoffen, waarbij een combinatie van humuszuren en nitraat aan
20 een anaërobe bacteriepopulatie wordt toegevoegd. De anaërobe bacteriepopulaties, die voor de afbraak van de aromatische koolwaterstoffen zorgdragen, komen van nature in de bodem en in grondwater voor. Door het doseren van het mengsel van nitraat en humuszuren volgens de uitvinding wordt bereikt dat de afbraak van benzeen en andere aromaten onder
25 nitraatreducerende anaërobe condities wordt gestimuleerd en gestabiliseerd.

Een zeer geschikte elektronenacceptor is nitraat, omdat dit in water oplosbaar, en daarmee in de praktijk goed doseerbaar is, zonder dat er neerslagen worden gevormd. Bovendien is nitraat een zeer sterke

elektronenacceptor. Behalve nitraat komen ook andere stikstofhoudende verbindingen in aanmerking, in het bijzonder tussenproducten uit de reductie van nitraat, zoals nitriet en distikstofmonoxide (N_2O). In dit verband wordt opgemerkt, dat in reactie (2) hierboven niet

5 noodzakelijkerwijs stikstof gevormd hoeft te worden. Het is ook mogelijk dat nitriet, N_2O of ammonium (NH_4^+) gevormd wordt. Nitriet en N_2O kunnen op hun beurt weer als elektronenacceptor fungeren.

Verder kunnen metaalionen, zoals Fe(III) en Mn(IV) als elektronenacceptor worden toegepast. Het nadeel hiervan is echter dat deze
10 neerslagen vormen en daardoor moeilijk doseerbaar zijn. Bovendien blijven deze metalen in de bodem aanwezig.

Ook sulfaat kan als elektronenacceptor worden toegepast maar dit wordt gereduceerd tot sulfide (zie reactievergelijking (4)). Sulfide is giftig en vormt gemakkelijk neerslagen, waardoor de bodem kan verstopen.
15 Bovendien is het oxiderend vermogen van sulfaat gering, waarmee het een minder sterke elektronenacceptor dan nitraat is. Daarom is sulfaat minder geschikt.

Chloorhoudende verbindingen, met name chloraat, kunnen eveneens worden toegepast als elektronenacceptor. Hoewel chloraat in
20 principe de bovengenoemde voordelen van nitraat heeft, wordt chloraat in de bodem gereduceerd tot chloriet (ClO_2^-), hetgeen vanwege de toxiciteit ervan niet gewenst is.

Verrassenderwijs blijkt het tevens mogelijk om bepaalde gechloreerde koolwaterstoffen als elektronenacceptor te gebruiken. Dit kan
25 met name voordelig zijn indien grond behandeld moet worden die behalve met aromaten (in het bijzonder benzeen) tevens met deze gechloreerde koolwaterstoffen vervuild is. Deze "combinatievervuiling" komt in de praktijk vaak voor. Deze gechloreerde koolwaterstoffen zijn bij voorkeur perchlooretheen, trichlooretheen, 1,2-dichloorethaan, chloorfenol,
30 chloorbenzoëzuur en/of chloorbenzeen. In deze uitvoeringsvorm volstaat het

om de humuszuren in de grond te brengen omdat de elektronenacceptor immers daarin al aanwezig is. Desgewenst kan ook een extra hoeveelheid van de bovengenoemde elektronenacceptoren, in het bijzonder nitraat, worden toegevoerd.

- 5 Zonder gebonden te willen zijn aan enige theorie wordt aangenomen, dat de afbraak van de aromaten volgens de uitvinding volgens een of beide van de volgende twee hypothetische routes verloopt.

- Volgens de eerste hypothetische route is het mogelijk dat humuszuren als een zgn. elektronen-shuttle fungeren tussen bacterie 1 en
10 bacterie 2 in het schema hieronder en waarbij (bijvoorbeeld) nitraat als terminale elektronenacceptor fungeert:

Bacterie 1:	
aromaat	$\rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{e}^-$
geoxideerd humuszuur + e^-	\rightarrow gereduceerd humuszuur (*)

Bacterie 2:	
gereduceerd humuszuur (*)	\rightarrow geoxideerd humuszuur + e^-
$\text{NO}_3^- + \text{e}^-$	$\rightarrow \text{N}_2$

- 15 Hierbij geeft het sterretje (*) aan, dat het product van bacterie 1 gebruikt wordt door bacterie 2.

- Hoewel het aannemelijk is, dat bij de afbraak meer dan een bacteriesoort betrokken is, is niet uit te sluiten dat alle processen in één bacteriesoort worden uitgevoerd. Volgens een alternatief hypothetisch
20 afbraakmechanisme worden humuszuren gebruikt als een elektronendonor en (bijvoorbeeld) nitraat als elektronenacceptor:

Bacterie
$\text{Aromaat} + \text{gereduceerd humuszuur} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{geoxideerd humuszuur} + \text{e}^-$ $\text{NO}_3^- + \text{e}^- \rightarrow \text{N}_2$

De humuszuren zorgen in dit geval voor de inductie van enzymen die betrokken zijn bij de afbraak van benzeen. Dit tweede hypothetische afbraakmechanisme is eveneens plausibel, omdat humus veel aromatische moleculen bevat. Het is denkbaar dat enzymen die de aromaten in humus afbreken niet specifiek zijn en daarbij ook andere aromaten, zoals benzeen, kunnen omzetten.

De uitvinding kan zeer geschikt worden toegepast voor het reinigen van met aromatische koolwaterstoffen vervuilde bodems, bijvoorbeeld de bodem onder (voormalige) benzinestations. Zeer geschikt kan de uitvinding worden toegepast voor de afbraak van benzeen. Dit is verrassend, aangezien algemeen wordt aangenomen, dat benzeen van alle aromatische bodemverontreinigingen de meest notoire is, dat wil zeggen het moeilijkst wordt afgebroken (zie bijvoorbeeld Suarez en Rifai, *Bioremediation Journal* 3(4)(1999) 337-362).

Behalve benzeen kunnen volgens de uitvinding andere aromaten, zoals BTEX (benzeen, toluen, ethylbenzeen en/of xyleen), polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAKs), in het bijzonder naftaleen en fenanthreen, zeer doelmatig worden afgebroken. Ook gesubstitueerde aromaten, in het bijzonder gechlloreerde aromaten kunnen volgens de uitvinding worden afgebroken. Zeer geschikt om te worden afgebroken volgens de uitvinding zijn gechlloreerde benzenen, in het bijzonder monochloorbenzeen.

In principe kan de uitvinding worden toegepast voor het afbreken van alle aromaatverontreinigingen, waaronder de aromaten (dat wil zeggen koolwaterstoffen met ten minste een benzeenring) die voorkomen op de zgn.

“zwarte lijst” gepubliceerd door het Ministerie van Volksgezondheid Ruimtelijke Ordening en Milieu (“Streefwaarden en interventiewaarden bodemsanering”, Nederlandse Staatscourant, Nr. 39, 24 februari 2000, blz. 8-16) welke lijst hierbij geacht wordt te zijn ingelast.

5 De term “humuszuren” verwijst volgens de gebruikelijke definitie naar de in water oplosbare fractie van organische zuren aanwezig in humus, dan wel naar de zouten (bijvoorbeeld de natriumzouten) van deze zuren. De humuszuren die volgens de uitvinding worden toegepast, kunnen in verschillende vormen worden toegepast. Zo is het mogelijk om gezuiverde
10 humuszuren toe te passen, welke bijvoorbeeld door extractie van humusrijke producten kunnen zijn verkregen. Een voordeel van het toepassen van (deels) gezuiverde humuszuren is, dat hierdoor een geconcentreerdere oplossing kan worden verkregen waardoor er minder vloeistof hoeft te worden geïnjecteerd. Het humuszuur kan in de zure vorm
15 of als zout worden toegepast. Hoewel een oplossing doorgaans makkelijk te doseren is, is het ook mogelijk om een poedermengsel te maken van het humuszuur en de elektronenacceptor en dit in poedervorm, of eventueel als slurry, in de grond te brengen. Op deze wijze kan een zeer hoge concentratie aan humuszuur en elektronenacceptor worden bereikt.

20 Daarnaast is het mogelijk om het humuszuur in de vorm van compost, humusrijk percolaat en/of plantaardig materiaal toe te passen. Een voordeel van dergelijke humuszuurrijke producten is dat deze goedkoper zijn.

25 Als nitraat wordt bijvoorbeeld natrium-, kalium- of ammoniumnitraat toegepast. Natrium- en kaliumnitraat genieten de voorkeur, omdat deze goedkoper zijn. Bovendien is ammoniumnitraat (kunstmest) explosief en het werken ermee geniet niet altijd de voorkeur bij gebieden die vervuild zijn met de doorgaans licht ontvlambare aromatische verbindingen.

De hoeveelheid humuszuur en nitraat wordt bij voorkeur zodanig gekozen, dat de concentratie humuszuur in de te saneren locatie 0,1-10 g/(liter grond), met meer voorkeur 0,2 - 2 g/dm³ bedraagt, en de concentratie nitraat (of andere geschikte elektronenacceptor) 1-100 mM, met meer
 5 voorkeur 5 - 50 mM bedraagt (eveneens betrokken op het volume grond). Deze concentraties kunnen echter per toepassingsgeval verschillen.

Het werken bij een hoge concentratie van humuszuren en nitraat (of andere elektronenacceptoren) heeft als bijkomend voordeel, dat per injectiepunt een grotere ruimte behandeld kan worden. Zelfs als de
 10 concentratie direct rondom het injectiepunt zo hoog is, dat deze lokaal toxisch is voor de micro-organismen, biedt dit nog steeds een voordeel: door diffusie zal er een gradiënt optreden in de concentratie van de geïnjecteerde stoffen, welke gradiënt afloopt in de richting weglopend van het injectiepunt. Hierdoor kan een grotere "wolk" (dat wil zeggen een gebied
 15 met een groter volume) worden behandeld.

De onderlinge gewichtsverhouding van humuszuur / elektronenacceptor (gebaseerd op natriumnitraat als elektronenacceptor) in een mengsel volgens de uitvinding bedraagt bij voorkeur ongeveer 2.

De uitvinding heeft tevens betrekking op een mengsel omvattende
 20 een waterige oplossing van humuszuur en nitraat. Bij voorkeur bevat een dergelijk mengsel 1 - 10 gew.% humuszuur en 2 - 20 gew.% nitraat (uitgedrukt als natriumnitraat), met meer voorkeur 5-10 gew.% humuszuur en 10-20 gew.% nitraat. Met bijzondere voorkeur is de oplossing zo geconcentreerd mogelijk. Een dergelijk mengsel kan zeer geschikt worden
 25 ingezet in de werkwijze volgens de uitvinding. Desgewenst kan dit mengsel worden aangevuld met additieven. Geschikte additieven zijn vitaminen, sporenelementen (Zn, Co, Cu, etc.) en/of macronutriënten (S, P, Fe-bronnen) welke de groei van de anaërobe bacteriën verbeteren. Doorgaans wordt een standaardvitaminenmengsel en/of een standaardsporenmengsel toegepast,
 30 zoals geïllustreerd in onderstaande voorbeelden.

Volgens de uitvinding wordt de biologische afbraak van aromaten, waaronder benzeen, onder anaërobe condities gestimuleerd en gestabiliseerd. Dit biedt met name voordelen bij de behandeling van vervuilde locaties op plaatsten die moeilijk met zuurstof te behandelen zijn, zoals de diepe ondergrond onder bebouwing en in klei en leemlagen.

Omdat nitraat (of andere elektronenacceptoren) en humuszuren goed in water oplosbaar zijn, in tegenstelling tot zuurstof, wordt het mogelijk om locaties met hoge concentraties aromaten te behandelen.

Een bijkomend voordeel is, dat humuszuren het oplossen van aromaten in water bevorderen, doordat humuszuren zowel hydrofobe als hydrofiele eigenschappen hebben en dus een oppervlakteactieve werking hebben. Dit bevordert het oplossen van niet opgeloste aromaten (bijvoorbeeld aanwezig in de bodem in zgn. drijflogen, dan wel in zinklagen) waardoor deze sneller kunnen worden afgebroken. Ook aromaten die in gronddeeltjes (bijvoorbeeld kleideeltjes) zijn gesorbeerd kunnen dankzij de aanwezigheid van de humuszuren gemakkelijker oplossen. Hierdoor kan de verontreiniging versneld worden afgebroken en/of uit de bodem worden gepompt.

De uitvinding zal nu worden toegelicht aan de hand van een voorbeeld en vergelijkingsvoorbeelden.

VOORBEELDEN

In een laboratoriumopstelling werd in een bioreactor bij 20°C en pH 7 een anaëroob mineralen kweekmedium van de volgende samenstelling continu doorgevoerd (concentraties betrokken op volume van de reactor, zgn. "reservoirconcentraties")

Macro-nutriënten

	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5	g/l
30	MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,1	g/l

	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,05	g/l
	NaNO ₃	1,7	g/l
	KH ₂ PO ₄	1,0	g/l
	Na ₂ HPO ₄	3,5	g/l

5

Sporenelementen

	EDTA	1,0	mg/l
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	2,0	mg/l
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,1	mg/l
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,03	mg/l
	H ₃ BO ₃	0,3	mg/l
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,2	mg/l
	CuCl ₂ ·2H ₂ O	0,01	mg/l
	NiCl ₂ ·6H ₂ O	0,02	mg/l

15

	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,03	mg/l
	Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O	0,03	mg/l
	Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O	0,03	mg/l

Vitaminen

20	para-aminobenzoëzuur	0,2	mg/l
	folinezuur	0,1	mg/l
	DT-lipoïnezuur	0,1	mg/l
	riboflavine	0,2	mg/l
	thiamine	0,4	mg/l
25	nicotinezuuramide	0,4	mg/l
	pyridoxine.HCL	1,0	mg/l
	panthotenaat	0,2	mg/l
	vitamine B ₁₂	0,2	mg/l
	biotine	0,004	mg/l

30

De verdunningssnelheid bedroeg $0,17 \text{ dag}^{-1}$. Benzeen werd uit een geconcentreerde anoxische (dat wil zeggen: zuurstofvrije) waterige oplossing met een spuitenpomp continu aan de reactor gedoseerd, zodat een concentratie van $50 - 200 \mu\text{M}$ in de reactor (reservoirconcentratie) werd verkregen. Teneinde zuurstofvorming door algen uit te sluiten was het reactorvat verduisterd. Op deze wijze werd een zgn. chemostaatcultuur verkregen. De reactor werd geënt met vier nitraat-reducerende en benzeen-afbrekende verrijkingcultures die afkomstig waren van verschillende met benzeen verontreinigde locaties in Nederland.

Vergelijkingsvoorbeeld 1

De bovengenoemde oplossing werd tezamen met de genoemde benzeenoplossing door de reactor geleid. Geen benzeenafbraak kon worden vastgesteld.

Vergelijkingsvoorbeeld 2

De bovengenoemde oplossing werd aangevuld met 5 mM acetaat (reservoirconcentratie) en deze oplossing werd op gelijke wijze als in Vergelijkingsvoorbeeld 1 tezamen met de benzeenoplossing door de reactor geleid. Wederom werd geen benzeenafbraak vastgesteld.

Vergelijkingsvoorbeeld 3

Vergelijkingsvoorbeeld 2 werd herhaald, maar nu werd in plaats van acetaat aan de oplossing benzoaat toegevoegd (reservoirconcentratie 5 mM). Wederom werd geen benzeenafbraak vastgesteld.

Voorbeeld 1 (uitvinding)

Vergelijkingsvoorbeeld 3 werd herhaald, maar nu werd na een periode van 8 dagen overgeschakeld op een oplossing van $0,5 \text{ g/liter}$ natriumzout van humuszuren (reservoirconcentratie, ex Sigma-Aldrich) die

zoals boven beschreven aan de reactor werd gedoseerd. De benzeenconcentratie (gemeten met een gaschromatograaf) daalde snel: de halfwaardetijd bedroeg ca. 1,5 dag. De onderstaande tabel geeft het verloop van de benzeenconcentratie in de tijd:

Tijd /[dagen]	Dosering	Benzeenconcentratie / [μM] ²⁾
0	Nitraat/benzoaat	48,10
2,85	Nitraat/benzoaat	51,49
7,05 ¹⁾	Nitraat/benzoaat	51,38
13,86	Nitraat/humuszuren	29,41
15,03	Nitraat/humuszuren	20,96
16,85	Nitraat/humuszuren	8,34
17,85	Nitraat/humuszuren	2,47
20,84	Nitraat/humuszuren	1,73
28,85	Nitraat/humuszuren	0,51
30,92	Nitraat/humuszuren	0,02
31,85	Nitraat/humuszuren	0,01

5 1) moment waarna geschakeld werd tussen een oplossing van nitraat/benzoaat naar een oplossing van nitraat/humuszuren.

 2) nominale concentratie, dat wil zeggen benzeen in het totale systeem betrokken op de vloeistoffase.

10 Toen vervolgens nitraat uit het medium werd weggelaten, nam de nitraatconcentratie af, totdat er geen nitraat meer te meten was. Vanaf dat moment nam de benzeenconcentratie in het reactorvat weer toe. Na toevoeging van nitraat herstelde het afbraakproces zich snel, resulterend in volledige benzeenafbraak binnen een week.

15 Het in Voorbeeld 1 beschreven proces (anaërobe benzeenafbraak in aanwezigheid van humuszuren en nitraat) werd gedurende lange periode uitgevoerd en gevolgd. Na een half jaar werd nog steeds volledige benzeenafbraak waargenomen onder de bovengenoemde condities.

Deze experimenten tonen aan, dat de combinatie humuszuren/nitraat gebruikt kan worden voor het stimuleren en stabiliseren van anaërobe afbraak van aromaten.

CONCLUSIES

1. Werkwijze voor de anaërobe biologische afbraak van bodemvervuilende aromatische koolwaterstoffen aanwezig op een verontreinigde locatie, waarbij een combinatie van een of meer humuszuren, desgewenst als zout, en ten minste een elektronenacceptor aan anaërobe bacteriepopulaties wordt toegevoegd.
2. Werkwijze volgens conclusie 1, waarbij genoemde elektronenacceptor gekozen is uit stikstofhoudende verbindingen, in het bijzonder nitraat, nitriet en/of N_2O ; Fe(III); sulfaat; chloraat; Mn(IV); gechloreerde koolwaterstoffen; en combinaties daarvan.
3. Werkwijze volgens conclusie 2, waarbij genoemde elektronenacceptor nitraat is.
4. Werkwijze volgens conclusie 2, waarbij genoemde elektronenacceptor perchlooretheen, trichlooretheen, 1,2-dichloorethaan, chloorfenol, chloorbenzoëzuur en/of chloorbenzeen is.
5. Werkwijze volgens een der voorgaande conclusies, waarbij genoemde locatie een vervuilde bodem is en waarbij genoemde combinatie van humuszuren en elektronenacceptor door middel van injectie in de bodem wordt gebracht.
6. Werkwijze volgens een der voorgaande conclusies, waarbij genoemde aromatische koolwaterstoffen BTEX (benzeen, toluen, ethylbenzeen en/of xyleen), polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAKs) of mengsels daarvan omvatten, welke aromatische koolwaterstoffen al dan niet gehalogeneerd zijn.
7. Werkwijze volgens conclusie 7, waarbij genoemde aromatische koolwaterstoffen al dan niet gechloreerd benzeen omvatten, bij voorkeur monochloorbenzeen.

8. Werkwijze volgens een der voorgaande conclusies, waarbij genoemde humuszuren of zouten daarvan in gezuiverde vorm en/of in de vorm van compost, humusrijk percolaat en/of plantaardig materiaal worden toegepast.
- 5 9. Mengsel van humuszuur en nitraat omvattende een waterige oplossing van 1- 10 gew.% humuszuur en 2 - 20 gew.% nitraat (uitgedrukt als natriumnitraat).
10. Toepassing van een mengsel volgens conclusie 6, voor de anaërobe biologische afbraak van aromatische koolwaterstoffen.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.